



TUGAS AKHIR - SB0141510

DEGRADASI PEWARNA AZO MERAH (*Congo red*) OLEH KAPANG WONOREJO

**LATIFAH AMALIAH BINTI SAELAN
1511 100 021**

**Dosen Pembimbing
Nengah Dwianita Kuswytasari, S.Si., M.Si**

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya 2015**



FINAL PROJECT - SB0141510

DEGRADATION OF RED AZO DYE (*Congo red*) BY MOLDS FROM WONOREJO

**LATIFAH AMALIAH BINTI SAELAN
1511 100 021**

**Advisor Lecturer
Nengah Dwianita Kuswytasari, S.Si., M.Si**

**Departement of Biology
Faculty of Mathematics and Science
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya 2015**

LEMBAR PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

DEGRADASI PEWARNA AZO MERAH (*Congo red*) OLEH KAPANG WONOREJO

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Memperoleh Gelar Sarjana Sains

Pada

Jurusan S-1 Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh:

LATIFAH AMALIAH BINTI SAELAN
NRP. 1511 100 021

Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir.

N. D. Kuswytasari, S.Si., M.Si..... (Pembimbing)

Surabaya, 27 Juli 2015

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi



Dr. rer. nat. Ir. Maya Shovitri, M.Si
NIP. 19690907 199803 2 001

DEGRADASI PEWARNA AZO MERAH (*Congo red*) OLEH KAPANG WONOREJO

Nama : Latifah Amaliah Binti Saelan
NRP : 1511 100 021
Jurusan : Biologi
Dosen Pembimbing : N. D. Kuswytasari, S.Si., M.Si

Abstrak

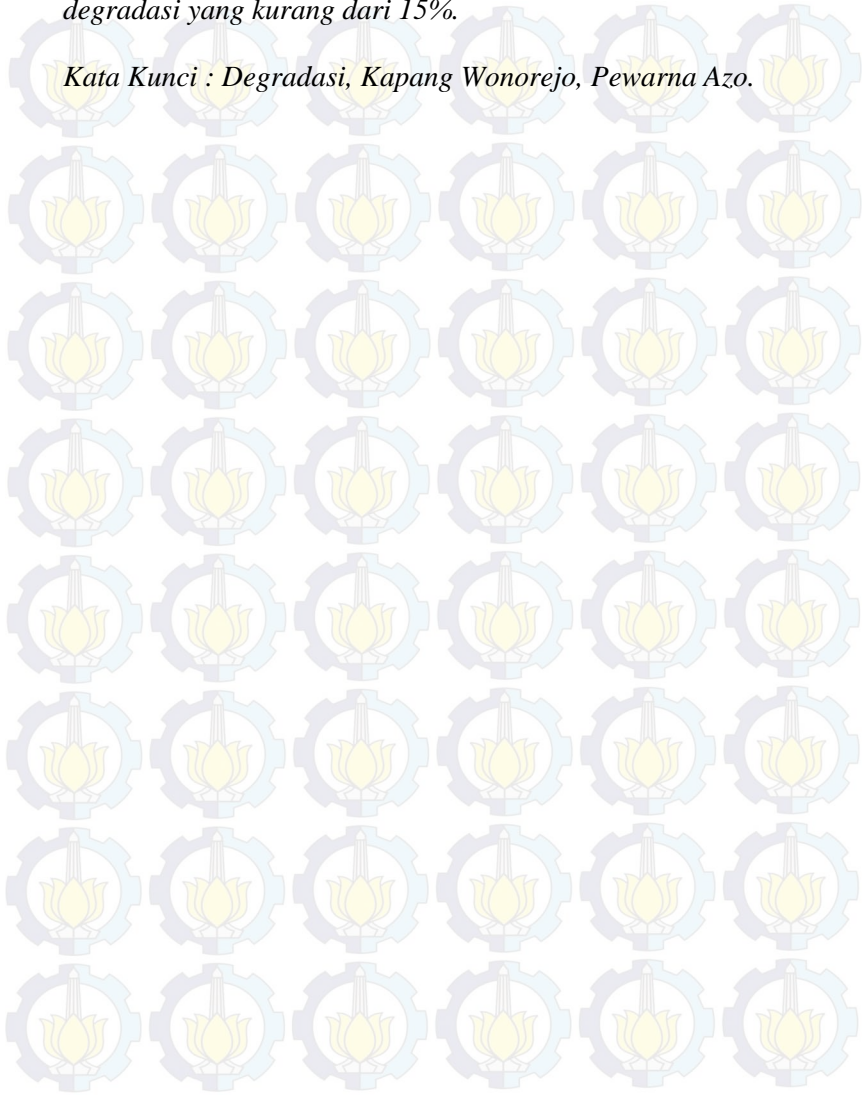
Industri tekstil merupakan salah satu industri yang menghasilkan limbah pewarna dengan volume yang besar. Salah satu jenis pewarna yang sering digunakan adalah pewarna azo. Pewarna azo mengandung struktur kompleks aromatik yang stabil dan tidak mudah didegradasi. Salah satu proses degradasi yang dapat dilakukan yaitu secara biodegradasi dengan memanfaatkan kemampuan makhluk hidup seperti kapang. Kapang yang digunakan sebelumnya telah diketahui dapat mendegradasi pewarna azo Orange II.

Sejumlah 21 isolat kapang koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi ITS yang telah diisolasi dari kawasan mangrove Wonorejo digunakan untuk mengetahui potensi isolat tersebut dalam mendegradasi jenis pewarna azo merah (congo red) sebanyak 50 ppm dengan perlakuan tiga pH berbeda yakni pH 4, 5 dan 6. Potensi degradasi isolat kapang akan dilihat pada inkubasi hari ke-7 dan ke-14. Besar nilai konsentrasi degradasi diketahui dari nilai absorpsi pada panjang gelombang 500 nm yang telah dimasukkan ke dalam persamaan pada kurva standar masing-masing pH.

Uji degradasi oleh kapang menghasilkan nilai degradasi pada pH 4 sebesar 14% oleh isolat Gliomastix sp. (LM 1020), pada pH 5 sebesar 12,44% oleh isolat Gliocladium sp. (LM 1019), dan pada pH 6 sebesar 12,25% oleh isolat Exophiala sp. (LM 1017) Hasil penelitian menunjukkan bahwa 21 isolat kapang koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan

Biologi ITS dapat mendegradasi pewarna congo red dengan nilai degradasi yang kurang dari 15%.

Kata Kunci : Degradasi, Kapang Wonorejo, Pewarna Azo.



DEGRADATION OF RED AZO DYE (*Congo red*) BY MOLDS FROM WONOREJO

Name : Latifah Amaliah Binti Saelan
NRP : 1511 100 021
Department : Biologi
Advisor Lecturer : N. D. Kuswytasari, S.Si., M.Si

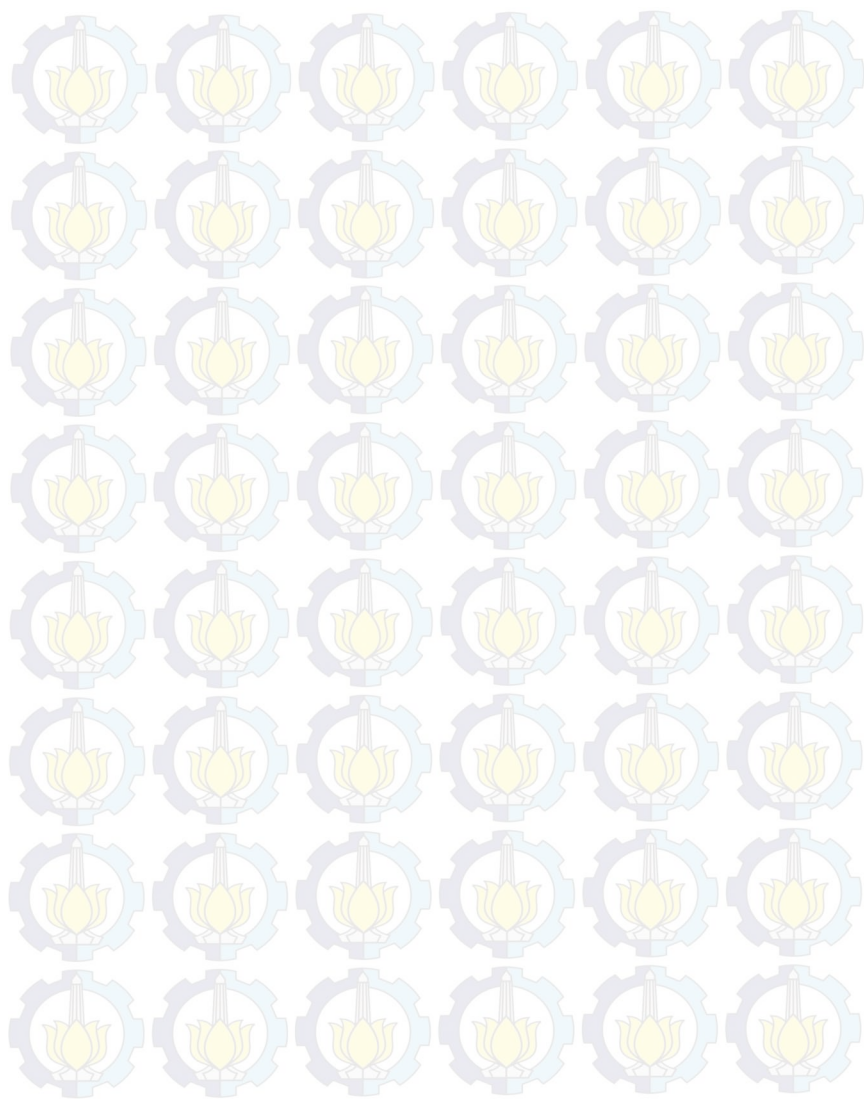
Abstract

The textile industry is one of the industries that produce the waste dye with a large volume. One type of dye that is often used is azo dyes. Azo dyes containing aromatic complex structure that is stable and not easily degraded. One degradation process that can be done is by biodegradation, which is by leveraging the capabilities of living beings such as fungi. Fungi that was previously used found to degrade azo dye Orange II.

Some 21 molds collection of the Laboratory of Microbiology and Biotechnology Department of Biology ITS which has been isolated from the mangrove areas Wonorejo used to determine the potential of these isolates to degrade kind of red azo dyes (*congo red*) of 50 ppm by treatment with three different pH ie pH 4, 5 and 6. The potential degradation of mold isolates will be seen on the 7th day of incubation and 14th. Great degradation value known with concentration of absorbtion is a wavelength of 500 nm which has been put into the equation in the standard curve of each pH.

The degradation Test by fungi produce by isolate *Gliomastix* sp. (LM 1020) at a pH value of 4 is 14%, at pH 5 is 12.44% by isolate *Gliocladium* sp. (LM 1019), and at pH is 6 12.25% by isolate *Exophiala* sp. (LM 1017). In this study showed that 21 isolates of fungi collection of the Laboratory of Microbiology and Biotechnology Department of Biology, ITS can degrade congo red dye degradation value of less than 15%.

Keywords: Azo Dyes, Degradation, Molds from Wonorejo.



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan ridho-Nya sehingga laporan tugas akhir yang berjudul “**Degradasi Pewarna Azo Merah (*Congo red*) Oleh Kapang Wonorejo**” dapat terselesaikan dengan baik.

Tugas akhir ini disusun untuk memenuhi persyaratan kurikulum S1 Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya dan untuk memperoleh informasi mengenai Potensi Isolat Kapang koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Biologi ITS dalam mendegradasi pewarna azo.

Selama pelaksanaan dan penyusunan laporan tugas akhir ini, penulis banyak mendapatkan pengarahan serta bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada Ibu Nengah Dwianita Kuswytasari, S.Si., M.Si selaku dosen pembimbing yang telah memberikan pengarahan dan masukan dalam proses penelitian berlangsung, Ibu Dr. Awik Puji Dyah Nurhayati, M.Si selaku penguji satu dan ketua sidang, serta Bapak Dr. techn. Endry Nugroho Prasetyo, S.Si., MT selaku penguji dua. Penulis mengucapkan terima kasih atas semua kritik dan saran yang diberikan oleh para penguji. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Ibu Dr. rer. nat. Ir. Maya Shovitri, M.Si selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA ITS. Terima kasih untuk ayah dan ibu (Bapak Saelan dan Ibu Mardiyah) yang selalu memberikan dukungan baik moril maupun materil, para anggota *Scylla serrata* selaku teman seperjuangan dalam penyusunan proposal tugas akhir, terutama untuk Windasari Putri Septarina, Aiditya Pamungkas dan Neneng Uswatun Hasanah selaku sahabat seperjuangan dalam sidang Bulan Juli ini. Terima kasih juga penulis ucapkan kepada para sahabat, Metria Pratiwi, Rendy Aprilianto Wahyudi, Dimas Cahyo Pranata, Fariz Juni Avianto, Zakaria Dwi Sadewo, Aulia ‘Alin Yulda, Mei Rinjani, Agastyo Djanardono Basoeki, dan Uchik Nur Hidayatika

yang telah memberikan dukungan hingga penulis dapat menyelesaikan laporan tugas akhir.

Dalam penulisan proposal ini penulis menyadari masih banyak kekurangan, untuk itu penulis memohon maaf bila terdapat kesalahan serta mengharapkan saran dan kritik yang membangun demi kesempurnaan laporan tugas akhir yang akan datang. Semoga tugas akhir ini dapat bermanfaat untuk semua pihak.

Surabaya, 2015

Latifah Amaliah Binti Saelan

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL (INDONESIA)	i
HALAMAN JUDUL (INGGRIS)	iii
LEMBAR PENGESAHAN	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	ix
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xix
DAFTAR LAMPIRAN	xxi
 BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan	3
1.5 Manfaat	3
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kapang	5
2.2 Kapang Koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi ITS	5
2.2.1 Aspergillus	5
2.2.2 Absidia	5
2.2.3 Acremonium	6
2.2.4 Cephalophora	6
2.2.5 Curvularia	6
2.2.6 Exophiala	6
2.2.7 Fusarium	6
2.2.8 Gliomastix	7
2.2.9 Gliocladium	7

2.2.10 <i>Mycelia sterilia</i>	7
2.2.11 <i>Paecylomyces</i>	7
2.2.12 <i>Stachybotrys</i>	7
2.2.13 <i>Scopulariopsis</i>	8
2.2.14 <i>Trichoderma</i>	8
2.2.15 <i>Verticillium</i>	8
2.3 Pewarna	8
2.3.1 <i>Congo red</i>	10
2.4 Toksisitas Pewarna Azo.....	11
2.5 Mekanisme Dekolorisasi Pewarna Azo.....	11
2.6 Spektrofotometri	12

BAB III METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	13
3.2 Persiapan SubKultur 21 Isolat Kapang	13
3.3 Pembuatan Medium	13
3.3.1 <i>Potato Dextrose Agar-Chloramphenicol</i> (PDA-C)....	13
3.3.2 Medium <i>Basal Broth-Chloramphenicol</i> (MBB-C)	14
3.4 Pembuatan Starter	14
3.5 Pembuatan <i>Buffer</i> Larutan Standar <i>Congo red</i>	14
3.6 Pembuatan Kurva Standar	15
3.7 Uji Degradasi Pewarna Azo	15
3.8 Pengukuran Efisiensi Degradasi Pewarna Azo.....	16
3.9 Rancangan Penelitian dan Analisis Data	16

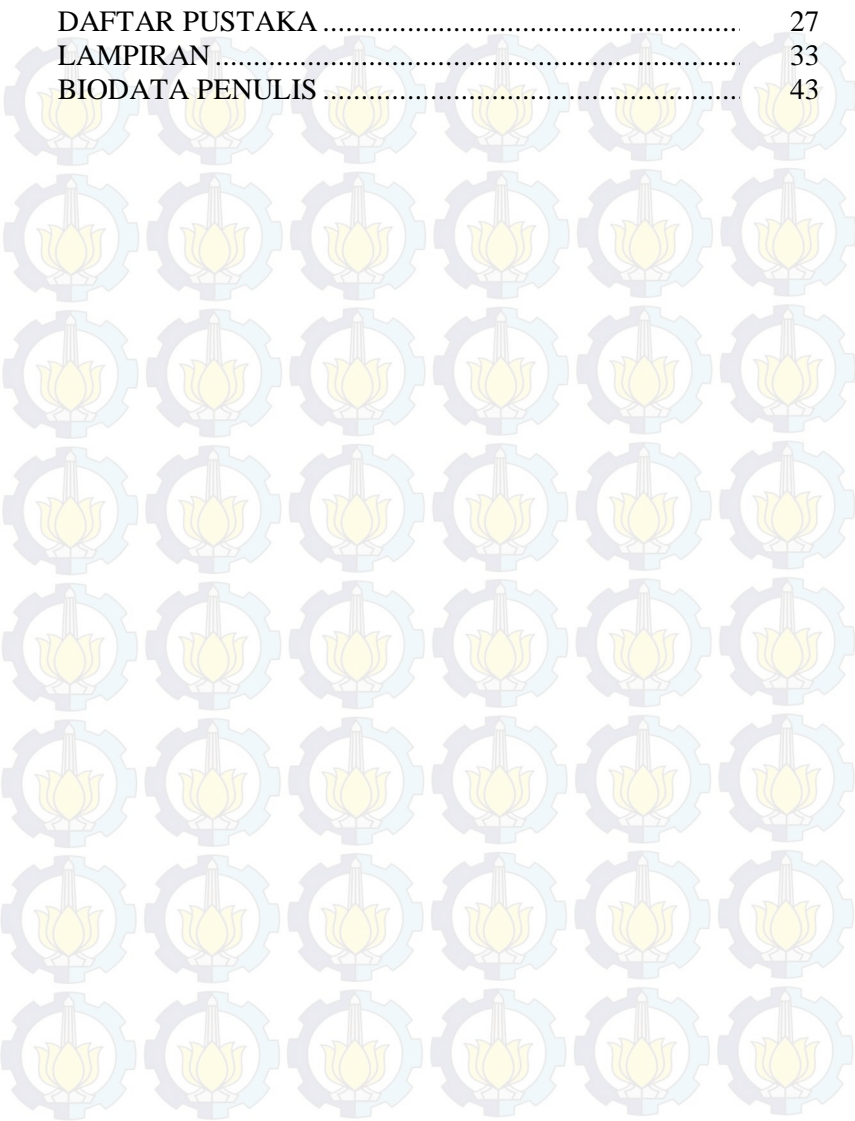
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 SubKultur 21 Isolat Kapang	17
4.2 Kurva Standar Pewarna Azo Merah (<i>Congo red</i>).....	17
4.3 Uji Degradasi Pewarna Azo Merah (<i>Congo red</i>) pada medium cair	19

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan.....	25
5.2 Saran.....	25

DAFTAR PUSTAKA	27
LAMPIRAN	33
BIODATA PENULIS	43



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.17 Struktur Pewarna <i>Congo red</i>	10
Gambar 4.1 SubKultur Isolat <i>A. flavus</i>	17
Gambar 4.2 Pewarna <i>congo red</i> berturut-turut: (a) pada pH 4; (b) pada pH 5; dan (c) pada pH 6	18
Gambar 4.3 Medium MBBC (a) pH 4; (b) pH 5; dan (c) pH 6	19
Gambar 4.4 Perbandingan warna medium kontrol (a) dengan medium isolat <i>Gliomastix</i> sp. 2 (b).....	22

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Nilai Persen Degradasi (%) dari 21 Isolat Kapang Uji	20

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1: Kurva Standar pH 4.....	33
Lampiran 2: Kurva Standar pH 5.....	33
Lampiran 3: Kurva Standar pH 6.....	34
Lampiran 4: Hasil Degradasi <i>congo red</i>	35
Lampiran 5: Besar Nilai Degradasi Pada Masing- masing Genus.....	40

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Industri tekstil merupakan salah satu industri yang menghasilkan limbah dengan volume yang besar. Warna yang kuat pada limbah tekstil menyebabkan permasalahan yang sangat serius saat limbah tersebut keluar ke lingkungan karena adanya ikatan yang kuat pada pewarna yang tidak mudah lepas sehingga dapat berdampak negatif terhadap lingkungan (Husseiny, 2008). Pewarna pada limbah dapat mempengaruhi aktivitas fotosintesis di dalam lingkungan akuatik karena dapat mengurangi penetrasi cahaya dan juga bersifat toksik terhadap organisme akibat adanya senyawa aromatik, logam, klorida dan senyawa toksik lainnya (Daneshvar *et al.*, 2007).

Pewarna sintetik sering digunakan dalam industri tekstil dan industri percetakan (Husseiny, 2008). Berdasarkan komposisi bahan kimia, pewarna sintetik diklasifikasikan sebagai pewarna azo, nitro, trifenilmethana, phthalosianin, indigoid dan pewarna anthraquinon. Berdasarkan aplikasi dan penggunaannya, diklasifikasikan sebagai pewarna dasar, asam, reaktif, polyazo, vat, azoik atau naftol, dan *disperse* (Murugesan & Kalaichelvan, 2003). Pewarna azo ($-N=N$) merupakan kelas pewarna sintetik terbesar dengan berbagai jenis warna dan struktur (Sawhney & Kumar, 2011).

Limbah pewarna yang dihasilkan dari industri tekstil merupakan salah satu yang paling sulit untuk dikelola karena pada pewarna terdapat beberapa jenis sumber sintetik yang mengandung struktur kompleks aromatik yang lebih stabil dan tidak mudah untuk didegradasi (Husseiny, 2008). Metode tradisional yang sering digunakan untuk menghilangkan pewarna azo dalam limbah tekstil yaitu proses sedimentasi, filtrasi dan dengan menambahkan senyawa kimia seperti pada proses flokulasi, netralisasi dan elektrodialisis sebelum

limbah dibuang. Proses tersebut tidak menjamin berkurangnya toksisitas pewarna dalam limbah. Selain itu, jumlah volume limbah yang dihasilkan selama proses produksi berlangsung membuat metode tersebut kurang efektif dan membutuhkan biaya yang besar (Gopi *et al.*, 2012).

Beberapa tahun terakhir, sejumlah peneliti dilakukan pada beberapa mikroorganisme yang memiliki kemungkinan sebagai agen biodegradasi dan bioabsorpsi pewarna dalam limbah cair. Mikroorganisme yang dapat melakukan dekolonisasi pewarna meliputi beberapa bakteri, fungi, dan alga (Fu & Tiraraghavan 2001; Fu & Tiraraghavan, 2002; Pazarlioglu *et al.*, 2005). Penggunaan mikroorganisme dalam menghilangkan pewarna menawarkan banyak kelebihan yaitu biaya yang diperlukan relatif terjangkau, menggunakan metode yang sederhana dan dengan biaya yang rendah dapat menghasilkan produk akhir yang tidak berbahaya (Husseiny, 2008). Salah satu mikroorganisme tersebut adalah fungi.

Menurut Reddy (1995) dalam Gopi *et al.* (2012), fungi dianggap paling baik dibandingkan dengan bakteri karena dua alasan yaitu karena fungi dapat memproduksi protein *heat-shock* dan kemampuan fungi dalam memproduksi beberapa jenis enzim yang berbeda seperti lakase, mangan peroksidase, dan lignin peroksidase.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa fungi dapat mendegradasi pewarna menggunakan enzim ekstraseluler non-spesifik (Gopiet *al.*, 2012). Salah satunya yaitu penggunaan enzim ligninase yang memiliki potensi strategis dimana proses perombakannya sampai pada mineralisasi menghasilkan zat tidak toksik dan bersifat non spesifik sehingga aktivitasnya pada spektrum luas (Fitriana & Kuswytasari, 2013).

Didukung dari penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Fitriana (2013) mengenai potensi isolat kapang Wonorejo dalam mendegradasi pewarna azo orange

Ilyang merupakan kelompok pewarna monoazo. Pada kelompok diazo, salah satunya jenis *congo red* belum dilakukan. Sehingga penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah isolat kapang tersebut juga berpotensi dalam mendegradasi jenis pewarna yang termasuk dalam kelompok diazo yaitu *congo red*.

1.2 Rumusan Masalah

Kelompok pewarna monoazo yaitu kelompok pewarna yang memiliki satu ikatan azo, sedangkan kelompok pewarna diazo memiliki dua ikatan azo. Permasalahan dalam penelitian ini yaitu bagaimana kemampuan isolat kapang koleksi laboratorium dalam mendegradasi pewarna azo merah (*congo red*) yang memiliki dua ikatan azo.

1.3 Batasan Masalah

Penelitian ini memiliki beberapa batasan masalah yaitu:

1. Isolat kapang yang digunakan merupakan isolat hasil isolasi dari kawasan Wonorejo yang merupakan koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi ITS sejumlah 21 isolat.
2. Panjang gelombang yang digunakan untuk pengukuran tingkat degradasi pewarna oleh kapang yakni sebesar 500 nm.

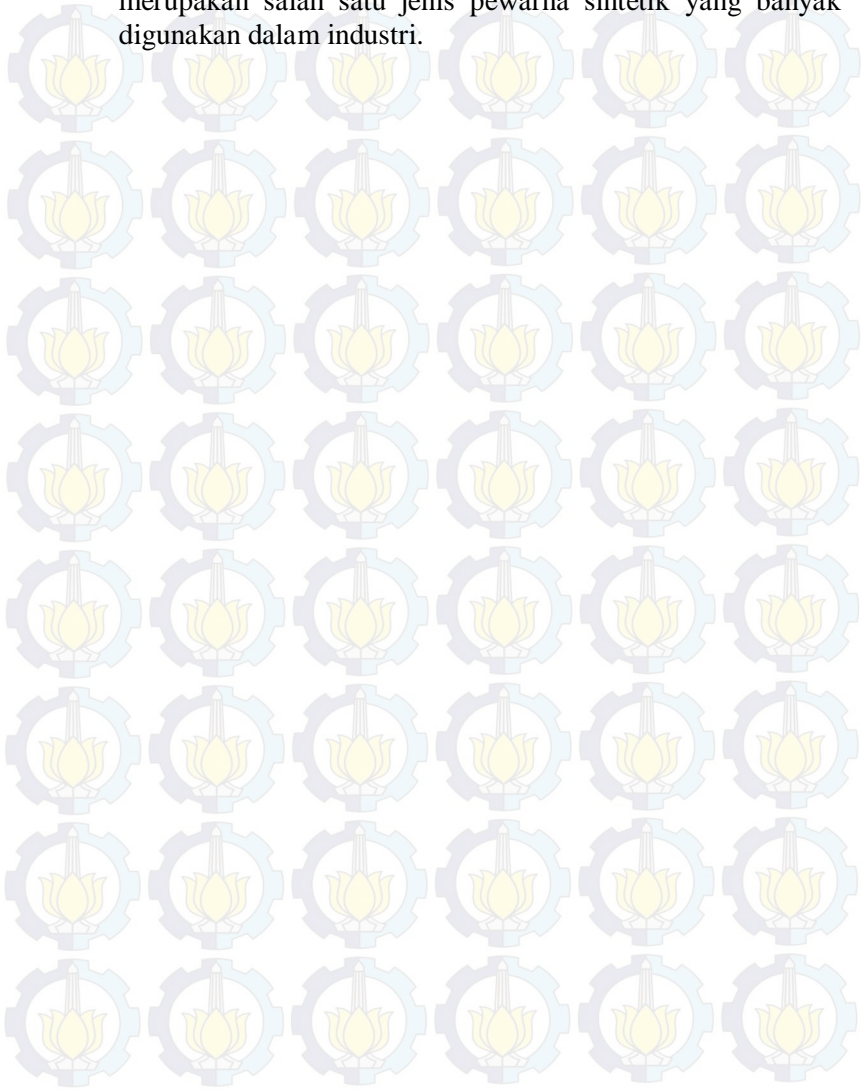
1.4 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah isolat kapang memiliki kemampuan dalam mendegradasi jenis pewarna azo merah (*congo red*).

1.5 Manfaat

Manfaat yang didapatkan dari penelitian yaitu diketahui besar kemampuan isolat kapang koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi ITS hasil isolasi dari kawasan mangrove Wonorejo dalam

mendegradasi pewarna azo merah (*congo red*) yang merupakan salah satu jenis pewarna sintetik yang banyak digunakan dalam industri.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kapang

Kapang (*molds*) adalah fungi yang tumbuh cepat dan bereproduksi secara aseksual. Miselium fungi ini tumbuh sebagai saproba atau parasit pada berbagai jenis substrat. Kapang dapat mengalami serangkaian tahapan reproduktif yang berbeda (Campbell *et al.*, 1999). Kapang memiliki tekstur yang halus dan biasanya ditemukan di tempat yang lembab, di permukaan makanan yang membusuk maupun makanan yang hangat (Viegas, 2004). Kapang disebut juga dengan jamur berfilamen karena tersusun atas hifa berbentuk filamen (Madigan *et al.*, 2012).

2.2 Kapang Koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi ITS

Menurut Fitriana (2013), sejumlah 35 isolat kapang yang merupakan koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Biologi ITS memiliki potensi sebagai agen hayati dalam mendegradasi limbah pewarna azo jenis orange II dan isolat *Gliomastix* sp. (LM 1020) memiliki potensi degradasi yang paling tinggi.

2.2.1 Aspergillus

Pada penelitian yang dilakukan oleh Fitriana (2013), Genus *Aspergillus* yang terdiri dari isolat *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. oryzae*, dan *A. vesicolor* dapat mendegradasi pewarna azo Orange II dengan nilai persen degradasi paling tinggi pada pH 5.

2.2.2 Absidia

Genus *Absidia* pada uji degradasi pewarna Azo Orange II yang dilakukan oleh Fitriana (2013) diketahui memiliki nilai persen degradasi paling tinggi pada pH 6 yakni sebesar 98,36%, pada pH 5 sebesar 84,56% dan pada pH 4 sebesar 35,71%.

2.2.3 Acremonium

Genus *Acremonium* pada uji degradasi pewarna Azo Orange II yang dilakukan oleh Fitriana (2013) diketahui memiliki nilai persen degradasi paling tinggi pada pH 5 yakni sebesar 33,69%. Sedangkan pada pH 4 sebesar 23,15% dan pada pH 6 sebesar 25,57%.

2.2.4 Cephaliophora

Genus *Cephaliophora* pada uji degradasi pewarna Azo Orange II yang dilakukan oleh Fitriana (2013) diketahui memiliki nilai persen degradasi paling tinggi pada pH 5 yakni sebesar 60,29%. Sedangkan pada pH 4 sebesar 33,01% dan pada pH 6 sebesar 29,79%.

2.2.5 Curvularia

Genus *Curvularia* pada uji degradasi pewarna Azo Orange II yang dilakukan oleh Fitriana (2013) diketahui memiliki nilai persen degradasi paling tinggi pada pH 5 yakni sebesar 98,06%. Sedangkan pada pH 4 sebesar 29,48% dan pada pH 6 sebesar 92%.

2.2.6 Exophiala

Genus *Exophiala* pada uji degradasi pewarna Azo Orange II yang dilakukan oleh Fitriana (2013) diketahui memiliki nilai persen degradasi paling tinggi pada pH 5 sebesar 98,06%. Sedangkan pada pH 4 sebesar 36,49% dan pada pH 6 sebesar 29,07%.

2.2.7 Fusarium

Genus *Fusarium* pada uji degradasi pewarna Azo Orange II yang dilakukan oleh Fitriana (2013) diketahui memiliki nilai persen degradasi paling tinggi pada pH 5 yakni sebesar 100%. Sedangkan pada pH 4 sebesar 88,78% dan pada pH 6 sebesar 39,38%.

2.2.8 Gliomastix

Genus *Gliomastix* pada uji degradasi pewarna Azo Orange II yang dilakukan oleh Fitriana (2013) diketahui memiliki nilai persen degradasi paling tinggi pada pH 5 yakni sebesar 98,93%. Sedangkan pada pH 4 sebesar 33,85% dan pada pH 6 sebesar 98,63%.

2.2.9 Gliocladium

Genus *Gliocladium* pada uji degradasi pewarna Azo Orange II yang dilakukan oleh Fitriana (2013) diketahui memiliki nilai persen degradasi paling tinggi pada pH 6 yakni sebesar 59,58%. Sedangkan pada pH 4 sebesar 31,61% dan pada pH 5 sebesar 52,37%.

2.2.10 *Mycelia sterilia*

Uji degradasi pewarna Azo Orange II yang dilakukan oleh Fitriana (2013) pada genus ini dilakukan pada tiga jenis isolat berbeda, dimana isolat *Mycelia sterilia* sp. 3 memiliki nilai persen degradasi paling tinggi pada pH 5 yakni sebesar 100%. Sedangkan pada pH 4 sebesar 33,41% dan pada pH 6 sebesar 37,59%.

2.2.11 *Paecylomyces*

Uji degradasi pewarna Azo Orange II yang dilakukan oleh Fitriana (2013) pada genus ini dilakukan pada lima jenis isolat yang berbeda, dimana isolat *Paecylomyces* sp. 4 memiliki nilai persen degradasi paling tinggi pada pH 5 yakni sebesar 100%. Sedangkan pada pH 4 sebesar 30,16% dan pada pH 6 sebesar 85,76%.

2.2.12 *Stachybotrys*

Uji degradasi pewarna Azo Orange II yang dilakukan oleh Fitriana (2013) pada genus ini dilakukan pada tiga jenis isolat yang berbeda, dimana isolat *Stachybotrys* sp. 1 dan *Stachybotrys* sp. 3 keduanya memiliki nilai persen degradasi paling tinggi pada pH 5 yakni sebesar 100%.

2.2.13 *Scopulariopsis*

Uji degradasi pewarna Azo Orange II yang dilakukan oleh Fitriana (2013) pada genus ini dilakukan pada dua jenis isolat yang berbeda, dimana isolat *Scopulariopsis* sp. 2 memiliki nilai persen degradasi paling tinggi pada pH 5 yakni sebesar 87,88%. Sedangkan pada pH 4 sebesar 41,34% dan pada pH 6 sebesar 35,5%.

2.2.14 *Trichoderma*

Uji degradasi pewarna Azo Orange II yang dilakukan oleh Fitriana (2013) pada genus ini dilakukan pada tiga jenis isolat yang berbeda, dimana isolat *Trichoderma koningi* memiliki nilai persen degradasi paling tinggi pada pH 5 yakni sebesar 100%. Sedangkan pada pH 4 sebesar 86,21% dan pada pH 6 sebesar 73,85%.

2.2.15 *Verticillium*

Genus *Verticillium* pada uji degradasi pewarna Azo Orange II yang dilakukan oleh Fitriana (2013) diketahui memiliki nilai persen degradasi paling tinggi pada pH 5 yakni sebesar 76,8%. Sedangkan pada pH 4 sebesar 18,14% dan pada pH 6 sebesar 24,16%.

2.3 Pewarna

Menurut Kirk-Othmer (1979) dalam Bruna de Campos Ventura-Camargo dan Maria Aparecida Marin- Morales (2013), pewarna dapat diklasifikasikan seperti berikut (Ventura-Camargo & Morales, 2013).

- Pewarna asam (*Acid dyes*) yang merupakan pewarna anionik dengan satu atau lebih gugus asam sulfonik atau karboksilik dan secara kimiawi dibentuk oleh senyawa azo, anthraquinon dan triarylmethana, iminoaseton, nitro, nitrous dan quinolin yang banyak digunakan dalam pembuatan produk kertas, makanan dan kosmetik.

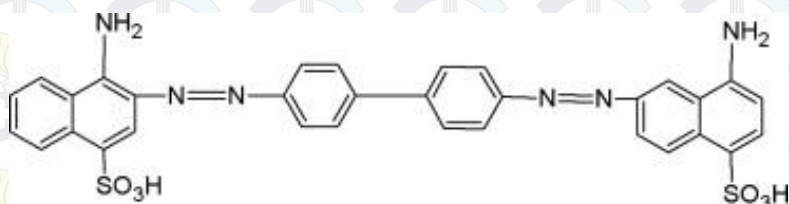
- Pewarna dasar (*Basic dyes*) merupakan pewarna yang dapat larut dalam air, pewarna senyawa kationik dalam larutan dan secara kimiawi dibentuk oleh senyawa azo, anthraquinon, triarylmethana, methana, thiazin, oxazin, acridin dan quinoine.
- Pewarna langsung (*Direct dyes*) merupakan senyawa anionic, dapat larut dalam air, saat terdapat larutan elektrolit (garam yang dapat meningkatkan afinitas). Secara kimiawi dibentuk oleh senyawa azo dengan thiazol, phtalocyanine dan oxazin.
- Pewarna Berpendar (*Fluorescent dyes*) merupakan kelompok xanthenes, senyawa tidak berwarna yang dapat diserap oleh sinar uv. Pewarna tersebut bukan merupakan pewarna namun disebabkan karena pengaplikasian secara luas dalam bahan kain dan bahan lainnya.
- Pewarna reaktif (*Reactive dyes*) merupakan senyawa dengan struktur kimia yang sangat sederhana, dengan spektrum penyerapan yang sempit.
- *Vat dyes* merupakan senyawa yang tidak dapat larut dalam air, terutama pada serat selulosik, seperti *leuco-solubel salts*. Secara kimiawi merupakan senyawa anthraquinon dan indigo.
- Prekursor pewarna (*Dye Precursors*) merupakan kelompok yang memiliki karakteristik kimiawi yang sederhana, seperti pada benzena dan naftalena yang warnanya dihasilkan dari beberapa reaksi kimia. Biasanya alama bentuk senyawa siklik atau aromatik dan turunanannya, terutama pada minyak bumi dan batu bara.

Menurut Majcen-le Marechal *et al.* (1997) dalam Bruna de Campos Ventura-Camargo and Maria Aparecida Marin-Morales (2013), terdapat lebih dari 3000 jenis pewarna yang berbeda di pasaran dan setengah dari pewarna tersebut merupakan kelompok senyawa azo. Keunggulan senyawa azo di dunia industri yaitu senyawa tersebut mudah disintesis, memiliki

banyak variasi warna dan warna yang kuat bila dibandingkan dengan pewarna alami. Pewarna azo merupakan senyawa yang memiliki satu atau lebih gugus azo ($-N=N-$), biasanya berikatan dengan radikal fenil dan radikal naphthyl pada gugus nomer satu atau empat yang dapat digantikan dengan beberapa kombinasi gugus fungsional termasuk amino ($-NH_2$), klorin ($-Cl$), hidroksil ($-OH$), metil ($-CH_3$), nitro ($-NO_2$), asam sulfonik dan garam sodium (SO_3Na). Pewarna azo disintesis dari senyawa aromatik, yang bukan merupakan dasar kelarutan (disebabkan adanya ikatan $N=N$ yang mengurangi kemungkinan bergabungnya sepasang elektron dalam atom nitrogen), yang dapat segera direduksi menjadi hidrazin dan amina primer yang berfungsi sebagai agen pengoksidasi.

2.3.1 Congo Red

Pewarna *congo red* merupakan garam sodium dari benzenediazo-bis-1-naphthylamine-4-sulfonic acid dengan rumus kimia $C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$, memiliki berat molekul sebesar 696,66 g/mol (Sawhney & Kumar, 2011). *Congo red* termasuk dalam kelompok diazo (Venkatesh *et al.*, 2014). *Congo red* dapat larut di air, ethanol, sedikit larut di acetone, tidak dapat larut di ether dan xylene (Yaneva & Georgieva, 2012). Satu gram *congo red* dapat larut dalam 30 ml air (Osol, Hoover, *et al.*, 1975). Sebanyak satu mg *congo red* dapat larut dalam 1 ml ethanol dan 10 mg *congo red* dapat larut dalam 1 ml 2-methoxyethanol (Green, 1990).



Gambar 2.18 Struktur Pewarna *congo red* (Venkatesh *et al.*, 2014).

2.4 Toksisitas Pewarna Azo

Evaluasi dari toksisitas pewarna tekstil penting untuk dilakukan, terutama yang memberikan efek terhadap lingkungan dan organisme di dalamnya. Limbah pewarna azo yang tidak terkontrol dalam kolom air dapat menjadi masalah lingkungan yang serius, seperti berkurangnya penyerapan cahaya yang mempengaruhi organisme di lingkungan akuatik dan dapat menghasilkan senyawa amina yang berbeda dibawah kondisi anaerob. Toksisitas akut dari pewarna azo menurut European Union for the Classification of Dangerous Substances, memiliki kadar yang rendah antara 250-2000 mg/Kg BB. Beberapa pewarna seperti *Acid dyes*, *Basic dyes* dan *Direct dyes* diklasifikasikan dalam toksisitas tinggi atau toksik terhadap ikan, crustaceae, alga dan bakteri ketika pewarna pada konsentrasi yang lebih dari 100 mg/L. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa keluarnya pewarna azo ke lingkungan merupakan sebuah peringatan akan senyawa toksik, mutagenik dan karsinogenik dari produk biotransformasi yang dapat menyebabkan berbagai macam gangguan terhadap organisme (Ventura-Camargo & Morales, 2013).

2.5 Mekanisme Dekolorisasi Pewarna Azo

Beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa mekanisme dalam dekolourisasi pewarna azo terdapat dua langkah yang sudah jelas yaitu penyerapan secara fisik dan degradasi secara enzimatis. Knapp dan Newby (1995) dalam Murugesan dan Kalaichelvan (2003) menyatakan bahwa penyerapan pewarna dilakukan oleh permukaan sel dengan mekanisme dekolourisasi. Young dan Yu (1997) menambahkan bahwa pengikatan pewarna oleh hifa fungi dan penyerapan fisik disertai degradasi enzimatis oleh ekstraseluler dan intraseluler enzim sehingga menyebabkan pewarna dapat memudar. Tingginya konsentrasi pewarna dapat menyebabkan tingkat dekolourisasi menjadi rendah. Enzim lignin peroksidase (LiP), mangan peroksidase (MnP) dan lakase yang dikaitkan dengan

degradasi lignin dapat menjadi penyebab dekolonisasi pewarna (Murugesan & Kalaichelvan, 2003).

Mekanisme oksidasi pewarna azo oleh enzim peroksidase seperti lignin peroksidase menyebabkan oksidasi gugus fenolik dan menghasilkan radikal pada karbon yang mengikat ikatan azo. Setelah itu air akan menyerang karbon fenolik sehingga menghasilkan fenildiazin yang dapat dioksidasi oleh reaksi satu elektron dan menghasilkan N_2 . Tahapan awal dalam penghilangan warna azo adalah dengan pemutusan ikatan azo yang tergantung dari jumlah dan posisi gugus fungsional di daerah aromatik dan interaksi yang dihasilkan dengan ikatan azo. Degradasi lebih lanjut dari pewarna azo melibatkan pembelahan cincin aromatik yang ditentukan dari jenis cincin dan adanya gugus fenolik, asetamido amino, 2-metoksifenol yang menyebabkan tingkat degradasi lebih besar (Murugesan & Kalaichelvan, 2003).

2.6 Metode Spektrofotometri

Metode pengukuran menggunakan prinsip spektrofotometri adalah berdasarkan absorpsi cahaya pada panjang gelombang tertentu melalui suatu larutan yang mengandung kontaminan yang akan ditentukan konsentrasinya. Proses ini disebut “absorpsi spektrofotometri” dan jika panjang gelombang yang digunakan adalah gelombang cahaya tampak, maka disebut sebagai “kolorimetri”, karena memberikan warna. Selain gelombang cahaya tampak, spektrofotometri juga menggunakan panjang gelombang ultraviolet dan infra merah. Prinsip kerja dari metode ini adalah jumlah cahaya yang diabsorpsi oleh larutan sebanding dengan konsentrasi kontaminan dalam larutan (Lestari, 2010).

BAB III METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Maret - Juli 2015 di Laboratorium Mikologi, Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi FMIPA Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

3.2 Persiapan Subkultur 21 Isolat Kapang

Kapang yang digunakan dalam penelitian sejumlah 21 isolat kapang yang merupakan koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi ITS. Isolat kapang tersebut merupakan isolat hasil isolasi dari kawasan mangrove Wonorejo oleh peneliti sebelumnya (Kuswytasari *et al.*, 2011). Isolat kapang tersebut disubkultur pada medium *Potato Dextrose Agar-Chloramphenicol* (PDA-C miring) dan diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari sebagai kultur stok kemudian disimpan dalam lemari es suhu 4°C, serta disubkultur setiap 30 hari sekali. Selain itu, isolat disubkultur ke dalam tabung reaksi yang berisi medium PDA-C miring sebagai kultur kerja pembuatan starter untuk uji degradasi pewarna azo. Kultur kerja diinkubasi selama 7 hari.

3.3 Pembuatan Medium

3.3.1 *Potato Dextrose Agar-Chloramphenicol* (PDA-C)

Medium *Potato Dextrose Agar-Chloramphenicol* (PDA-C) dibuat dengan cara 250 g kentang dikupas, dicuci, dan dipotong dadu 1x1 cm. Kemudian kentang direbus dengan 1 liter aquades steril selama 2 jam. Volume aquades tetap dijaga selama proses perebusan. Setelah 2 jam, ekstrak kentang hasil perebusan dituangkan ke dalam 2 buah erlenmeyer 1 L, masing-masing sebanyak 500 ml. Setiap erlenmeyer ditambahkan 10 g agar, 10 g dextrosa, dan 50 mg chloramphenicol. Medium cair kemudian dihomogenkan sampai larut. Erlenmeyer kemudian ditutup dengan sumbat dan plastik wrap. Medium disterilkan

menggunakan autoklaf pada suhu 121° C dan tekanan 1,5 atm selama 15 menit.

3.3.2 Medium Basal Broth Chloramphenicol (MBB-C)

Medium Basal Broth Chloramphenicol (MBB-C) merupakan medium cair yang digunakan untuk pertumbuhan jamur pada uji degradasi pewarna azo. Medium dibuat dengan cara menimbang ekstrak yeast 2 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1 g, KH_2PO_4 1,5 g, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,2 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,2 g, dan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,2 g. Kemudian ditambahkan dengan zat warna *congo red* sebanyak 0,05 g lalu dilarutkan ke dalam 1 liter aquades dalam erlenmeyer. Setelah itu dihomogenkan diatas *magnetic stirrer*. Setelah homogen lalu dilakukan proses sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C 1,5 atm selama 15 menit.

3.4 Pembuatan Starter

Biakan kapang yang telah ditumbuhkan di medium PDA-C miring diambil menggunakan jarum ose kemudian dilarutkan pada aquades sebanyak 10 ml hingga didapatkan jumlah spora 10^6 spora/ml. Suspensi spora diinokulasikan sebanyak 1 ml ke dalam erlenmeyer 50 ml yang telah berisi 9 ml medium Basal Broth Chloramphenicol (MBB-C) yang mengandung 50 ppm zat warna azo merah (*congo red*). Kemudian kultur diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari dengan goyangan 130 rpm diatas *rotary shaker* (Health, H-M-SR). Setelah 7 hari, kapang tumbuh pada MBB-C ini disebut sebagai starter kapang. Metode dimodifikasi dari Fitriana (2013).

3.5 Pembuatan Buffer Larutan Standar Congo red

Larutan standar *congo red* dibuat dengan *buffer* tiga jenis pH yang berbeda, yaitu larutan standar dengan *buffer* pH 4, pH 5, dan pH 6. Sebelumnya larutan stok pH 4, 5, dan 6 dibuat terlebih dahulu. *Buffer* sitrat digunakan untuk membuat stok dengan mencampurkan antara asam sitrat dan sodium sitrat dengan kombinasi volume yang berbeda sesuai dengan pH yang

diinginkan. Sebelumnya asam sitrat dan sodium sitrat dilarutkan terlebih dahulu. Asam sitrat 0,1 M dengan berat molekul 192,1 dilarutkan sebanyak 19,21 g dalam 1 liter aquades. Sodium sitrat yang memiliki berat molekul 294 dilarutkan sebanyak 29,4 g dalam 1 liter aquades. Setelah itu pH 4 dibuat dengan mencampurkan sebanyak 31,5 ml asam sitrat dengan 18,5 ml sodium sitrat lalu ditambahkan aquades hingga volume 100 ml. Pada pH 5, diambil sebanyak 20,5 ml asam sitrat dan 29,5 ml sodium sitrat lalu dihomogenkan dan ditambahkan aquades hingga volume 100 ml. Pada pH 6 diambil sebanyak 7,2 ml asam sitrat dan 42,8 ml sodium sitrat lalu dihomogenkan dan ditambahkan aquades hingga volume 100 ml.

3.6 Pembuatan Kurva Standar

Larutan standar *congo red* dibuat dengan konsentrasi 10; 30; 50; 70; dan 90 mM. Pembuatan larutan standar dengan cara mencampurkan *congo red* dengan masing-masing *buffer* pH yang telah dibuat sebelumnya. Setiap konsentrasi larutan standar diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 500 nm. Hasil pengukuran nilai absorbansi larutan standar *congo red* lalu dibuat grafik yang menghubungkan antara nilai absorbansi dengan konsentrasi larutan standar *congo red* sehingga diketahui besar nilai konsentrasi degradasi yang dilakukan oleh isolat terhadap pewarna *congo red*.

3.7 Uji Degradasi Pewarna Azo

Sebanyak 90 ml MBB-Cyang mengandung 50 ppm (Hadibarata *et al.*, 2013) zat warna *congo red* dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml. Uji degradasi dilakukan pada pH 4, 5, dan 6. Kemudian ditambahkan sebanyak 10 ml starter pada setiap medium uji dengan perlakuan pH yang berbeda, selanjutnya ditutup dengan sumbat kapas steril dan diinkubasi selama waktu yang ditentukan. Uji degradasi pewarna tersebut diukur pada waktu kontak 7 hari, dan 14 hari. Pada hari yang ditentukan, kultur disaring untuk memisahkan isolat dengan zat pewarna lalu

diukur konsentrasi zat warna menggunakan spektrofotometer (Techom UV Vis 1100, Jepang) pada panjang gelombang 500 nm (Patel & Vashi, 2012). Setelah itu, nilai absorbansi yang didapatkan akan dimasukkan ke dalam persamaan kurva standar sehingga didapatkan besar konsentrasi pewarna hasil degradasi. Sedangkan pada kontrol, medium MBB-C yang mengandung zat warna tidak ditambahkan dengan isolat dan dilakukan hal yang sama seperti pada medium uji.

3.8 Pengukuran Efisiensi Degradasi Pewarna Azo

Pengukuran menggunakan spektrofotometer (Techom UV Vis 1100, Jepang), diperoleh data absorbansi zat warna azo dari masing-masing sampel sudah diketahui, selanjutnya menentukan persen efisiensi degradasinya. Persen efisiensi degradasi pewarna azo (%E) dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Jalandoni-Buanet *al.*, 2010).

$$\% E = \frac{\text{Konsentrasi Pewarna Awal} - \text{Konsentrasi Pewarna Sisa}}{\text{Konsentrasi Pewarna Awal}} \times 100\%$$

Keterangan:

% E : Persen Efisiensi Degradasi

Uji degradasi *congo red* dianalisa dengan menggunakan metode deskriptif kuantitatif.

3.9 Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Rancangan penelitian dan analisis data pada uji degradasi *congo red* dilakukan dengan menggunakan metode deskriptif kuantitatif.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Subkultur 21 Isolat Kapang

Subkultur pada medium PDA-C dilakukan terhadap 21 isolat kapang yang akan dilakukan uji degradasi. Isolat-isolat yang digunakan meliputi *Exophiala* sp. (LM 1017), *Stachybotrys* sp. 2 (LM 1034), *Mycelia sterilia* sp.2 (LM 1041), *Curvularia* sp. (LM 1016), *Fusarium* sp. (LM 1018), *Verticillium* sp. (LM 1037), *Gliocladium* sp. (LM 1019), *Trichoderma koningi* (O3), *Trichoderma* sp. 1 (LM 1038), *Gliomastix* sp. 2 (LM 1020), *Cephalophora* sp. (LM 1014), *Paecylomyces* sp. 1 (LM 1028), *Paecylomyces* sp. 4 (LM 1031), *Absidia* sp. (LM 1001), *Aspergillus fumigatus* (LM 1012), *A. flavus* (LM 1010), *A. niger* (LM 1002), *A. oryzae* (LM 1011), *Acremonium* sp. (LM 1013), *Scopulariopsis* sp. 2 (LM 1023) dan *Scopulariopsis* sp. 1 (LM 1022). Isolat-isolat tersebut berasal dari 15 genus yang berbeda. Keberhasilan subkultur ditandai dengan pertumbuhan koloni yang seragam pada bekas pola *streak* atau gores pada medium (Harley & Prescott, 2002) seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.1. Subkultur dilakukan bertujuan untuk mempersiapkan kultur kerja.



Gambar 4.1 Subkultur Isolat *A. flavus*.

4.2 Kurva Standar Pewarna Azo Merah (*Congo red*)

Kurva standar pewarna azo merah (*congo red*) dibuat berdasarkan perlakuan pH yang berbeda yaitu pH 4, 5 dan 6 yang bertujuan untuk mengetahui besar konsentrasi pewarna yang terdegradasi pada masing-masing pH. Setiap konsentrasi pewarna pada masing-masing pH diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 500 nm (Patel & Vashi, 2012).

Pewarna *congo red* sendiri merupakan jenis pewarna diazo yang dapat digunakan sebagai indikator pH. Menurut Picken dan Herrera (2012), *congo red* dapat digunakan sebagai indikator pH karena terjadi perubahan warna dari merah ke biru pada kondisi asam yang kuat. Berdasarkan pengamatan, terlihat bahwa pada pH 4 berwarna biru keunguan, pada pH 5 berwarna merah keunguan dan pada pH 6 berwarna merah cerah seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.2. Semakin basa pH warna akan menjadi merah (Mera & Davies, 1984).



Gambar 4.2 Pewarna *congo red* berturut-turut: (a) pada pH 4; (b) pada pH 5; dan (c) pada pH 6.

Kurva standar yang telah dibuat pada masing-masing pH menghasilkan nilai absorbansi yang berbeda-beda, namun nilai absorbansi akan berbanding lurus dengan nilai konsentrasi, dimana bila konsentrasi tinggi maka nilai absorbansi yang dihasilkan juga tinggi dan sebaliknya, bila konsentrasi rendah maka nilai absorbansi yang dihasilkan juga rendah. Hal tersebut sesuai dengan Hukum Lambert-Beer (Gandhimathi *et al.*, 2012). Hukum Lambert-Beer menyatakan bahwa intensitas dari suatu berkas radiasi akan berkurang sehubungan dengan jarak yang ditempuhnya melalui medium penyerap. Intensitas tersebut juga berkurang sehubungan dengan kadar zat penyerap yang terdapat dalam medium tersebut (Swastiniarkuswan, 2011). Dari penelitian ini, setiap kurva standar akan menghasilkan suatu persamaan dan dari persamaan tersebut akan didapatkan besar konsentrasi hasil degradasi (Lampiran 1, 2, 3).

4.3 Uji Degradasi Pewarna Azo merah *congo red* pada Medium Cair

Degradasi pewarna merupakan suatu proses pemecahan zat warna dengan bantuan enzim. Pada kapang, enzim yang terkait yaitu enzim ligninase yang terdiri dari lignin peroxidase (LiP), mangan peroxidase (MnP) dan lakase yang mampu memineralisasi dan atau melakukan dekolorisasi pada zat pewarna (Erkurt, 2010). Namun menurut Singh (2006), tidak semua kapang menghasilkan ketiga enzim tersebut, ada beberapa kapang yang hanya mampu mensintesis dua atau satu enzim saja.

Pada uji degradasi, *Medium Basal Broth-Chloramphenicol* ditambahkan dengan 0,05 g *congo red* sebagai medium uji degradasi. Medium tersebut akan dimanfaatkan oleh kapang sebagai sumber nutrisi. Medium uji degradasi pewarna azo merah *congo red* dilakukan dengan 3 perlakuan pH yakni pada pH 4, 5 dan 6 seperti ditunjukkan pada Gambar 4.3, serta diukur nilai absorbansi pada panjang gelombang 500 nm (Patel & Vashi, 2012).



Gambar 4.3 Medium MBBC (a) pH 4; (b) pH 5; dan (c) pH 6.

Nilai absorbansi yang didapatkan akan dimasukkan ke dalam persamaan kurva standar serta persamaan persen degradasi sehingga didapatkan nilai persen degradasi yang terjadi pada 21 isolat kapang pada hari ke-7 dan hari ke-14 seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4.1 berikut.

Tabel 4.1 Nilai Persen Degradasi (%) dari 21 Isolat Kapang Uji

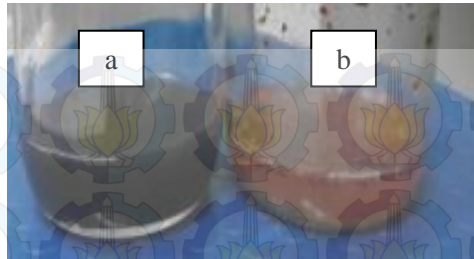
Isolat	Nilai Persen Degradasi (%)					
	Hari ke-7			Hari ke-14		
	pH 4	pH 5	pH 6	pH 4	pH 5	pH 6
<i>Scopulariopsis</i> sp.1	6,9	4,91	4,41	8,39	9,51	6,65
<i>Scopulariopsis</i> sp.2	6,45	4,7	4,55	7,77	7,63	5,91
<i>Acremonium</i> sp.	2,29	1,94	6,04	2,82	3,72	6,69
<i>A. oryzae</i>	4,69	6,31	4,38	6,43	9,48	6,25
<i>A. niger</i>	3,33	4,28	3,64	4,29	7,45	5,38
<i>A. flavus</i>	3,84	5,38	5,05	3,72	9,78	5,86
<i>A. fumigatus</i>	8,59	4,9	4,12	13,4	8,68	6
<i>Absidia</i> sp.	5,98	3,39	6,35	7,33	5,72	9,26
<i>Paecilomyces</i> sp.4	7,14	5,08	4,49	12,34	8,27	7,75
<i>Paecilomyces</i> sp.1	5,41	4,67	3,23	6,86	7,57	4,77
<i>Cephalophora</i> sp.	5,84	4,86	3,7	9,51	7,2	5,79
<i>Gliomastix</i> sp.2	7,77	4,48	3,95	14	6,82	6
<i>Trichoderma</i> sp.1	4,76	3,83	4,32	7,2	6,55	6,96
<i>Trichoderma</i> koningi	4,67	2,89	5,94	6,65	5,48	8,61
<i>Gliocladium</i> sp.	6,16	6,75	3,79	10,38	12,44	6,98
<i>Verticillium</i> sp.	4,35	4,6	3,67	5,73	6,61	6,29
<i>Fusarium</i> sp.	5,9	5,36	5,58	7,75	7,17	6,71
<i>Curvularia</i> sp.	4,16	6,17	4,41	4,21	10,41	6,93
<i>Mycelia sterilia</i>	5,9	4,88	3,72	8,04	7,47	4,71
<i>Stachybotrys</i> sp.2	1,2	3,69	3,77	1,9	5,93	7,055
<i>Exophiala</i> sp	5,61	4,87	7,78	7,37	7,21	12,25

Keterangan:

Pada isolat dan nilai degradasi tertinggi diberi tanda tebal.

Dari 21 isolat, diketahui bahwa isolat *Gliomastix* sp. 2 (LM 1020) memiliki persen degradasi paling tinggi pada pH 4 yakni sebesar 14% bila dibandingkan dengan isolat lainnya. Secara umum, kebanyakan jenis fungi dapat tumbuh dengan baik pada kondisi pH yang asam (Rousk *et al.*, 2009). Menurut Grant *et al.* (1986) Genus *Gliomastix* memiliki pH optimum sekitar 3,8. Dengan sesuainya kondisi medium dengan pH optimum kapang akan berdampak pada pertumbuhan miselia kapang. Miselia pada kapang dapat memberi keuntungan dalam proses degradasi karena dapat melarutkan substrat melalui produksi enzim ekstraseluler. Salah satu enzim ekstraseluler yang dimiliki kapang yaitu enzim ligninase. Menurut Ilmi (2013), isolat *Gliomastix* sp. 2 memiliki salah satu dari ketiga enzim ligninase yaitu enzim lignin peroksidase (LiP). LiP adalah enzim peroksidase ekstraseluler yang aktifitasnya bergantung pada H_2O_2 . LiP mengoksidasi senyawa aromatik (fenolik dan non fenolik) dengan memindahkan satu elektron, menghasilkan fenoksi radikal dan kation radikal. Kemudian bereaksi secara spontan dengan nukleofil (bagian utama air) dan molekul oksigen. Hasilnya sebuah “enzymatic combustion” (pembakaran secara enzimatik) (Ilmi *et al.*, 2013). Menurut Olikka *et al.* (1993), LiP menjadi perantara proses oksidasi *congo red* pada pH 4. Perubahan warna pada medium isolat *Gliomastix* sp.2 bila dibandingkan dengan kontrol seperti pada Gambar 4.4 juga merupakan salah satu karakteristik pewarna *congo red* saat ikatan pada pewarna mengalami oksidasi (Tatarko dan Bumpus, 1998).

Berdasarkan Tabel 4.1, isolat *Gliocladium* sp. (LM 1019) memiliki nilai persen degradasi yang paling tinggi pada pH 5 yakni sebesar 12,44% pada hari ke-14 bila dibandingkan dengan isolat lainnya. Pada kebanyakan kapang, rentang pH antara 5,5-6,5 merupakan rentang pH yang cocok untuk pertumbuhan maksimum dan sporulasi (Singh S. N., 2011). Menurut US EPA (2002) Genus *Gliocladium* memiliki rentang pH pertumbuhan antara 3-8,2 dengan pH optimum sekitar 5.



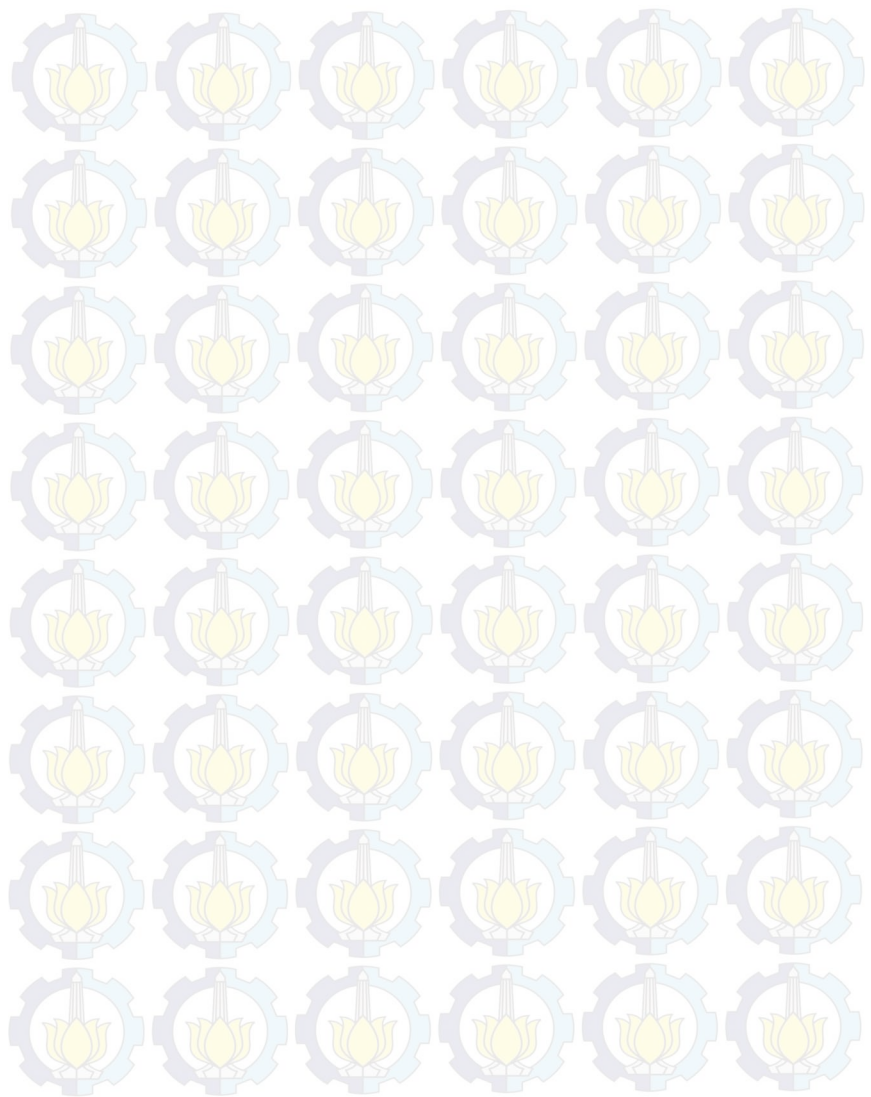
Gambar 4.4 Perbandingan warna medium kontrol (a) dengan medium isolat *Gliomastix* sp.2 (b).

Sedangkan pada pH 6, persen degradasi tertinggi dilakukan oleh isolat *Exophiala* sp. (LM 1017) dengan persen degradasi sebesar 12,25% pada hari ke-14. Secara umum, Genus *Exophiala* memiliki rentang pH pertumbuhan berkisar antara 3,9-6,9 dengan pH optimal pertumbuhan pada pH 5,9 (Singh S. N., 2011). Jenis isolat yang berbeda pada nilai persen degradasi tertinggi di setiap pH menunjukkan bahwa pH menjadi salah satu faktor yang mempengaruhi dalam proses degradasi. Nyoman (2011) juga menambahkan bahwa salah satu faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi degradasi pewarna azo menggunakan kapang adalah pH, dimana pada kondisi pH yang menguntungkan, aktivitas enzim berlangsung optimal dan akan mengalami penurunan aktivitas pada kondisi yang kurang sesuai. Pada proses degradasi dipengaruhi oleh enzim ligninase yang memiliki rentang pH optimum antara 4,5-5,5. Pengaruh pH juga berdampak pada struktur zat warna dan muatan listrik yang terkait dengan bioadsorpsi pada permukaan sel (Gou *et al.*, 2009). Pada pH yang sesuai untuk pertumbuhan kapang akan berdampak pada pertumbuhan miselia kapang yang baik sehingga dapat membantu dalam proses degradasi. Namun, nilai degradasi pada ketiga perlakuan pH yang berbeda menunjukkan nilai yang cukup rendah yakni dibawah 15%. Hal tersebut dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti agitasi dan aerasi yang memegang peranan penting dalam proses degradasi selain pH pada penelitian.

Proses agitasi dan aerasi dianggap menjadi salah satu faktor penting dalam proses degradasi karena organisme yang digunakan bersifat obligat aerob, dimana membutuhkan persediaan oksigen yang cukup untuk pertumbuhannya sehingga dengan adanya proses agitasi dan aerasi dapat meningkatkan pertumbuhan kultur isolat yang sebanding dengan meningkatnya massa sel dan transfer oksigen antara sel dan medium (Pavko, 2011). Selain itu, dengan persediaan oksigen yang cukup akan berdampak pada besarnya nilai degradasi oleh kapang karena oksigen digunakan untuk mengoksidasi zat warna (Winarno, 1998).

Pada penelitian, medium uji yang digunakan kurang mendapatkan agitasi dan aerasi yang baik sehingga persediaan oksigen yang ada pada medium kurang mencukupi untuk pertumbuhan kapang dan berdampak pada produksi enzim ekstraseluler yang dihasilkan kapang juga kurang optimal. Selain itu, oksigen yang dapat mempengaruhi proses oksidasi zat warna juga kurang optimal sehingga berdampak pada proses degradasi yang rendah.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

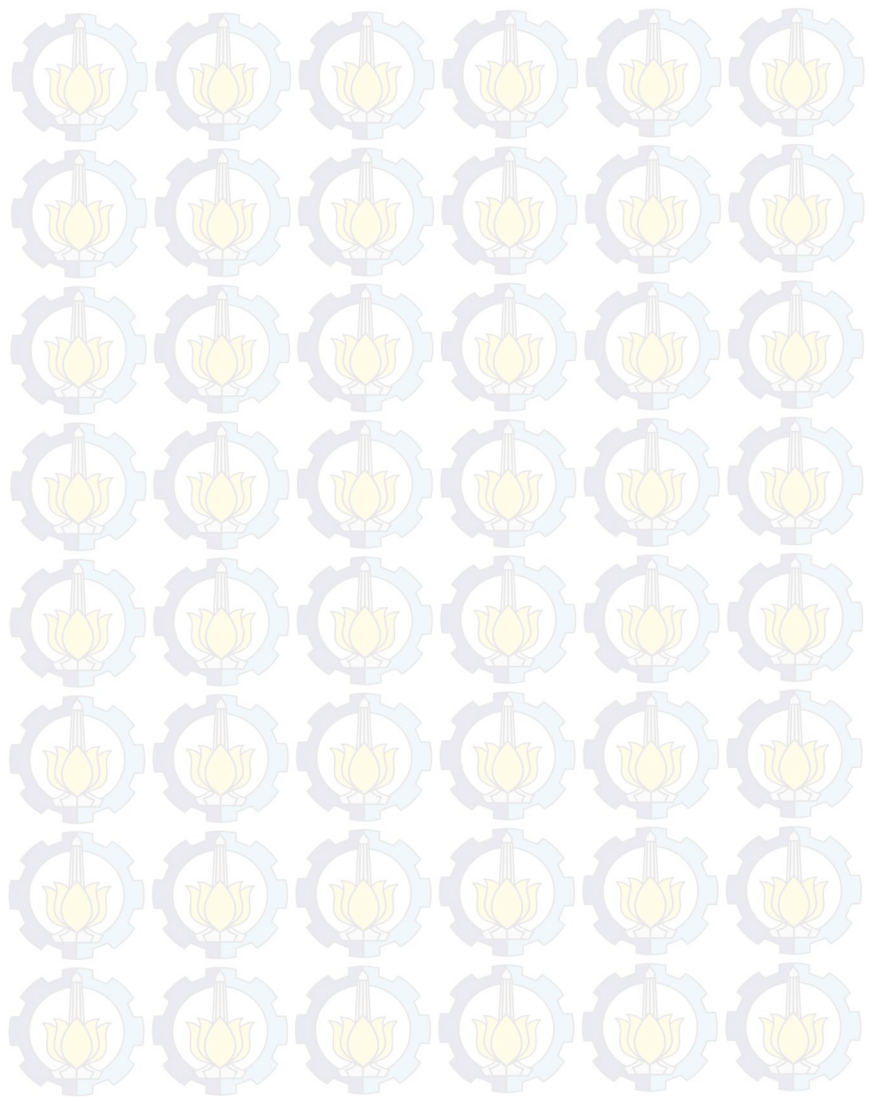
5.1 Kesimpulan

Pada penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ke 21 isolat memiliki kemampuan mendegradasi pewarna azo merah *congo red* yang cukup rendah yakni dengan presentase degradasi dibawah 15%. Persen degradasi tertinggi yang terjadi pada pH 4 dilakukan oleh isolat *Gliomastix* sp.2 (LM 1020) yakni sebesar 14%, pada pH 5 oleh isolat *Gliocladium* sp. (LM 1019) sebesar 12,44% dan pada pH 6 oleh isolat *Exophiala* sp. (LM 1017) sebesar 12,25%.

5.2 Saran

Saran pada penelitian selanjutnya untuk memperhatikan aerasi dan agitasi pada medium uji degradasi pewarna karena aerasi dan agitasi merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi kecepatan pertumbuhan dari isolat sehingga dapat melakukan degradasi lebih baik.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”



DAFTAR PUSTAKA

Agency, U. E. 2002. Biopesticides Registration Action Document: Gliocladium catenulatum strain J1446. USA.

Andriyadi, R. D. 2011. Isolasi dan Identifikasi Kapang Tanah di Kawasan Wonorejo. **Skripsi**. Surabaya: Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

Campbell, N. A., Reece, J. B., dan Mitchell, L. G. 1999. **Biology Fifth Edition**. California: Benjamin Cummings.

Daneshvar, N., Ayazloo, M., Khataee, A., dan Pourhassan, M. 2007. Biological Decolorization of Dye Solution Containing Malchite Green by Mircoalgae Cosmarium sp. **Journal of Bioresource Technology**, 98 (6), 1176-1182.

Erkurt, H. A. 2010. **Biodegradation of Azo Dyes**. Springer.

Fitriana, A., dan Kuswytasari, N. D. 2013. Potensi Isolat Kapang Koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Dalam Mendegradasi Pewarna Azo Orange II. **Jurnal Sains dan Seni POMITS**, 2, 2337-3520.

Fu, Y., dan Tiraraghavan, Y. 2002. Dye Biosorption Sites in Aspergillus niger. **Bioresource Technology**, 82, 139-145.

Fu, Y., dan Tiraraghavan, Y. 2001. Fungal Decolourization of Dye Waste Waters: A Review. **Bioresource Technology**, 79, 251-262.

Gandhimathi, R., Vijayaraj, S., dan Jyothirmaie, d. M. 2012. Analytical Process of Drugs by Ultraviolet (UV) Spectroscopy -

A Review. **International Journal of Pharmaceutical Research and Analysis**, 2 (2).

Gandjar, I. 2006. **Mikologi Dasar dan Terapan**. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.

Gou, M., Qu, Y., Zhou, J., Ma, F., dan Tan, d. L. 2009. Azo Dyes Decolorization by A New Fungal Isolate, *Penicillium* sp., QQ and Fungal-Bacteria. **Journal of Hazardous Materials**(1).

Gopi, V., Upgade, A., dan Soundararajan, N. 2012. Bioremediation Potential of Individual and Consortium Non-Adapted Fungal Strain on Azo Dye Containing Textile Effluent. **Pelagia Research Library**, 3 (1), 303-311.

Grant, W. D., Rhodes, L. L., Prosser, B. A., dan Asher, R. A. 1986. Production of Bacteriolytic Enzymes and Degradation of Bacteria by Filamentous Fungi. **Journal of General Microbiology**.

Hadibarata, T., Adnan, L. A., Yusoff, A. R., Yuniarto, A., dan Rubiyanto, Zubir, M. M. 2013. Microbial Decolorization of an Azo Dye Reactive Black 5 Using White-Rot Fungus *Pleurotus eryngii* F032. **Water Air Soil Pollut**, 224, 1595.

Harley, J. P., dan Prescott, L. M. 2002. **Laboratory Exercises in Microbiology: Fifth Edition**. USA: McGraw-Hill Publisher.

Husseiny, S. M. 2008. Biodegradation of the Reactive and Direct Dyes Using Egyptian Isolates. **Journal of Applied Sciences Researches**, 4 (6), 599-606.

Isik, M., dan Sponza, D. T. 2004. **Monitoring of Toxicity and Intermediates of C.I Direct Black 38 Azo Dye Through**

Decolourization in an Anaerobic/Aerobic Sequential Reactor System. Turkey: Elsevier.

Ilmi, Ima M., dan Kuswytasari, N. D. 2013. Aktivitas Enzim Lignin Peroksidase oleh Gliomastix sp. T3.7 pada Limbah Bonggol Jagung dengan berbagai pH dan Suhu. **Skripsi. Surabaya: Institut Teknologi Sepuluh Nopember.**

Jalandoni-Buan, A. C., Decena-Soliven, A. L., Ernelea p. Cao, V. L., dan Barraquoi, W. L. 2010. Characterization and Identification of Congo Red Decolorizing Bacteria from Monocultures and Consortia. **Philippine Journal of Science**, 139(1), 71=78.

Madan, M., dan Thind, K. S. 1998. **Physiology Fungi.** New Delhi: A.P.H Publishing Corporation.

Kuswytasari, N. D., Shovitri, M., dan Andriyadi, R. D. 2011. Isolation and Identification of Soil Molds Diversity in the Coastal Wonorejo Surabaya. **Proceeding International Conference on Mathematics and Science**

Lestari, Fatma. 2010. **Bahaya Kimia Sampling dan Pengukuran Kontaminan di Udara.** Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

Madigan, M. T., Martinko, J. M., Stahl, D. A., dan Clark, D. P. 2012. **Biology of Microorganisms Thirteenth Edition.** New York: Benjamin Cummings.

Mera, S. L., dan Davies, J. D. 1984. Differential Congo Red Staining: The effect pH, Non-aqueous Solvent and Substrate. **The Histochemical**, 16 (2).

Murugesan, K., dan Kalaichelvan, P. T. 2003. Synthetic Dye Decolourization by White Rot Fungi. **Indian Journal of Experimental Biology**, 41, 1076-1087.

Nyoman, I. S. 2011. Pemanfaatan Jamur Pelapuk Kayu Jenis *Pleurotus* sp. Untuk Mendegradasi Zat Warna Tekstil Jenis Azo. **Skripsi**. Bali: Jurusan Analisa Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Ganesha.

Olikka, P., Alhonmaki, K., Leppanen, V. M., dan Glurnoff, T. 1993. Decolourisation of Azo, Trimethylmethane, Heterocyclic, and Polymeric Dyes by Lignin Peroxidase Isoenzyme From *Phanerochaetes chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59, 4010-4016

Patel, H., dan Vashi, R. T. 2012. Removal of Congo Red Dye From It's Aqueous Solution Using Natural Coagulant. **Journal of Saudi Chemical Society**, 16, 131-136.

Pavko, A. 2011. **Fungal Decolourization and Degradation of Synthetic Dyes Some Chemical Engineering Aspects**. INTECH.

Pazarlioglu, N. K., Urek, R. O., dan Ergun, F. 2005. Biodecolourization of Direct Blue 15 by Immobilized *Phanerochaete chrysosporium*. **Process Biochemistry**, 40, 1923-1929.

Picken, Maria M., dan Guillermo A. Herrera. 2012. **Amyloid and Related Disorders: Surgical Pathology and Clinical Correlations**. Springer Science and Business Media. New York.

Rousk, J., Brookes, P. C., dan Baath, d. E. 2009. Contrasing Soil pH Effect on Fungal and Bacterial Growth Suggest Functional

Redundancy in Carbon Mineralization. *International Society of Microbial Biology*

Sawhney, R., dan Kumar, A. 2011. Congo Red (Azo dye) Decolourization by Local Isolate VT-II Inhabiting Dye Effluent Exposed Soil. **International Journal of Environmental Science, 1.**

Singh, H. 2006. **Mycoremediation**. USA: John Wiley and Sons.

Singh, S. N. 2011. **Microbial Degradation of Xenobiotics**. India: Springer.

Swastiniarkuswan, A. 2011. Optimasi Pereaksi Schryver dan Penyerapannya pada Analisis Formaldehid dalam Sampel Usus dan Hati Ayam Secara Spektrofotometri. **Skripsi**. Depok: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Program Studi Farmasi Universitas Indonesia.

Tatarko, M., dan Bumpus, John A. 1998. Biodegradation of Congo Red by *Phanerochaete chrysosporium*. **Wat. Res.** Vol 32.

Venkatesh, S., Pandey, N. D., dan Quoff, A. R. 2014. Decolourization of Synthetic Dye Solution Containing Congo Red By Advanced Oxidation Procee (AOP). **International Journal of Advanced Research in Civil, Structural, Environmental and Infrastucture Engineering and Developing, 2.**

Ventura-Camargo, B. D., dan Morales, M. A. 2013. Azo Dyes: Characterization and Toxicity - A Review. **Textile and Light Industrial Science and Technology, 2.**

Viegas, J. 2004. **Fungi and Molds**. New York: The Rosen Publishing Group.

Vinnere, O. 2004. Approaches to Species Delineation in Anamorphic (mitosporic) Fungi: A Study on Two Extreme Cases. **Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Science and Technology**, 917, 72.

Winarno, E. K. 1998. Pengurangan Warna dan Penguraian Zat Warna Direct Black 22 Dalam Air Dengan Iradiasi Gamma dan Aerasi. ***Penelitian dan Pengembangan Aplikasi Isotop dan Radiasi***.

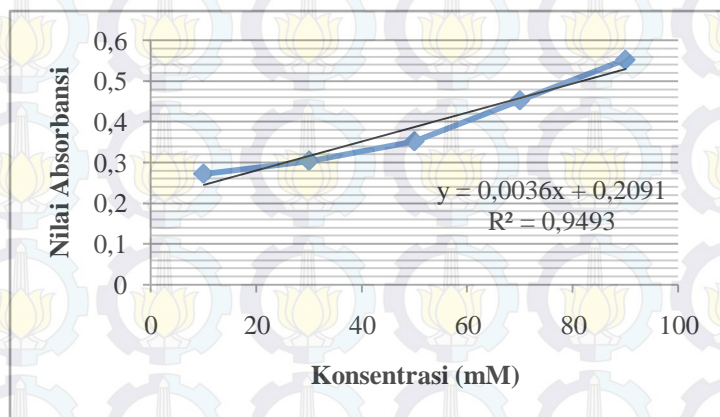
Yaneva, Z. L., dan Georgieva, N. V. 2012. Insight Into Congo Red Adsorption on Agro-Industrial Materials-Spectral, Equilibrium, Kinetic, Thermodynamic, Dynamic and Desorption Studies. A Review. **International Review of Chemical Engineering**, 4(2).

Yang, C. S., dan Heinsohn, P. A. 2007. **Sampling and Analysis of Indoor Microorganism**. New Jersey: John Wiley and Sons, Inc.

LAMPIRAN

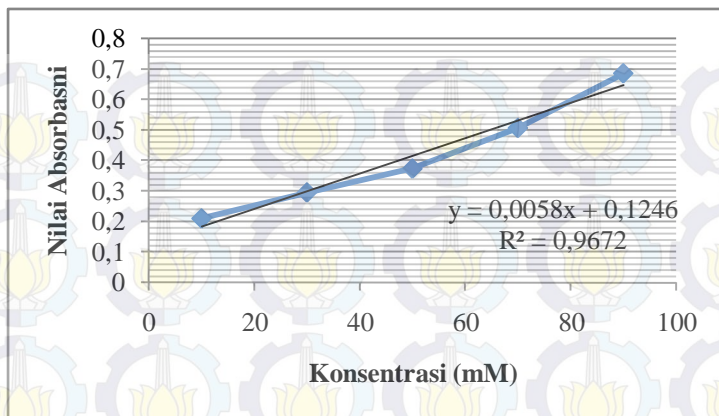
Lampiran 1. Kurva Standar pH 4

Konsentrasi	Nilai Absorbansi
10 mM	0,272
30 mM	0,304
50 mM	0,352
70 mM	0,453
90 mM	0,553



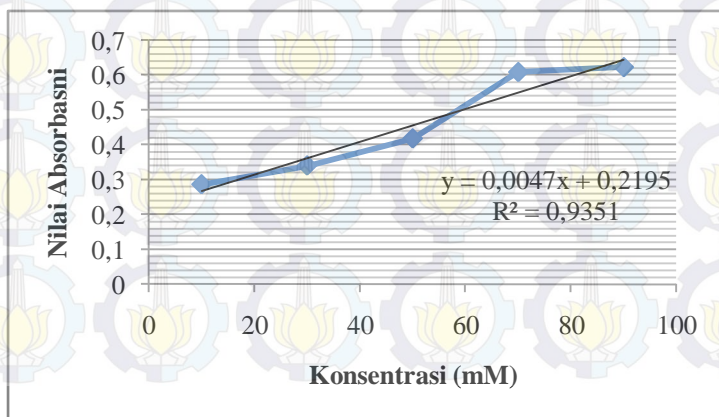
Lampiran 2. Kurva Standar pH 5

Konsentrasi	Nilai Absorbansi
10 mM	0,211
30 mM	0,296
50 mM	0,374
70 mM	0,507
90 mM	0,686




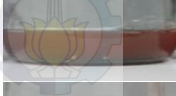

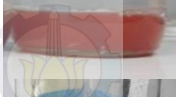




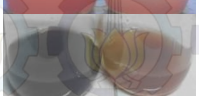
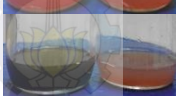
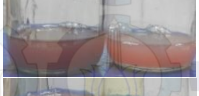


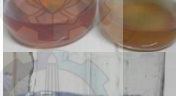














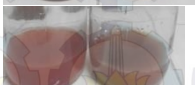
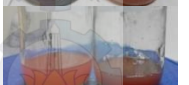

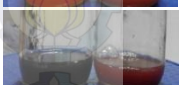
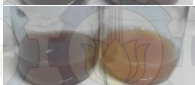





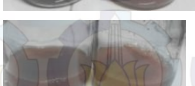
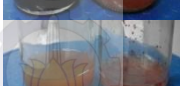


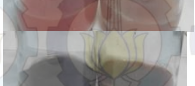



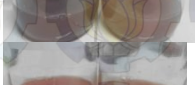


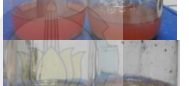

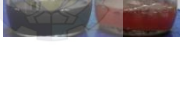


Lampiran 3. Kurva Standar pH 6

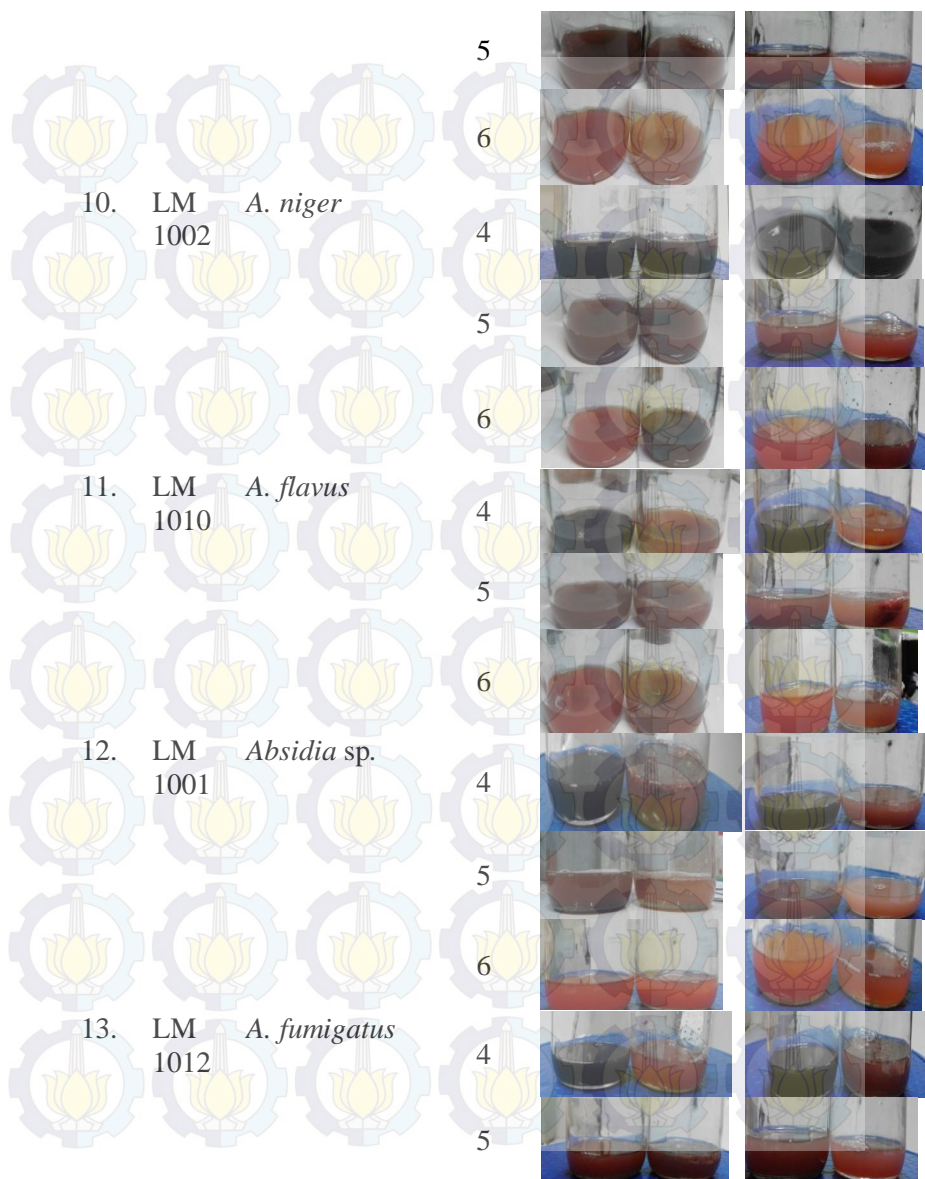
Konsentrasi	Nilai Absorbansi
10 mM	0,286
30 mM	0,34
50 mM	0,418
70 mM	0,609
90 mM	0,623

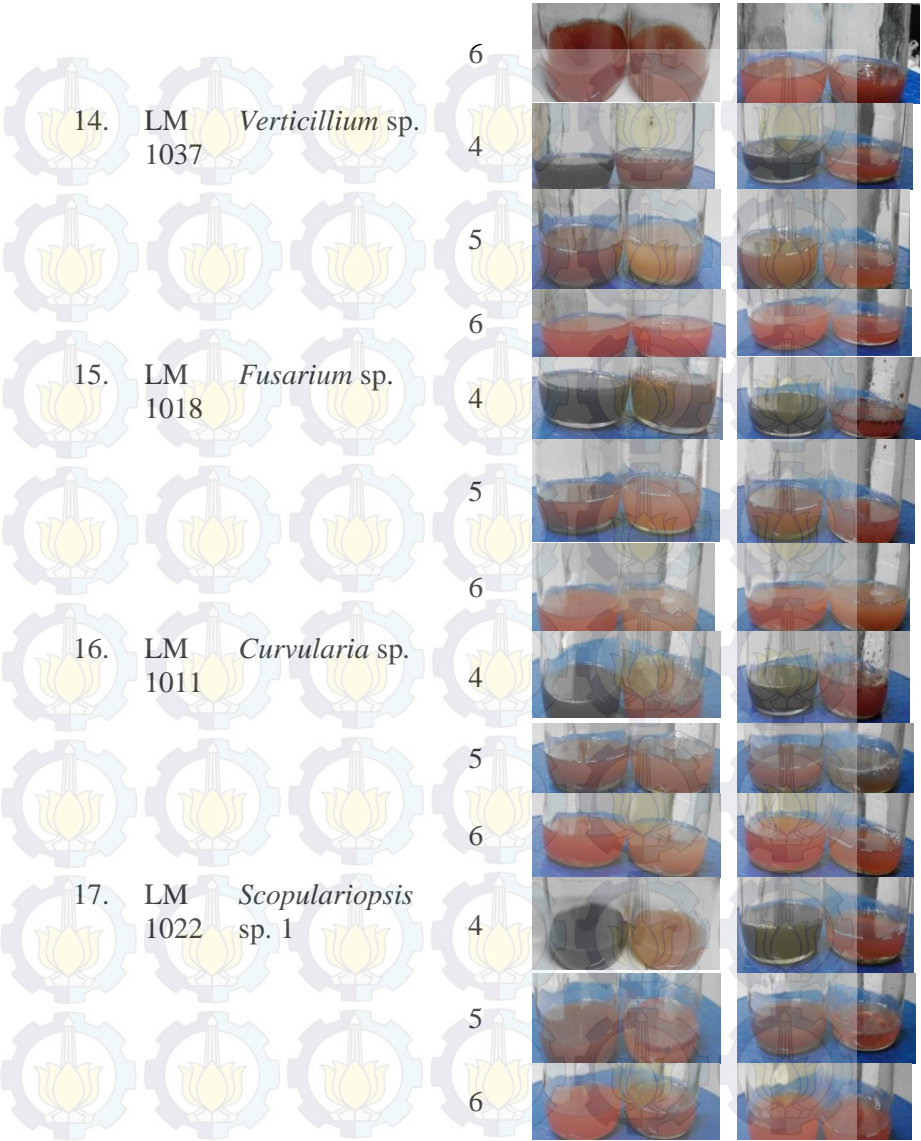


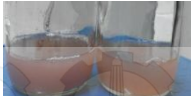
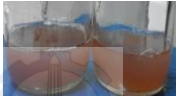
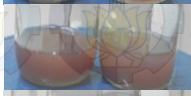






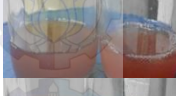


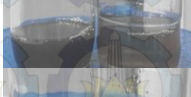






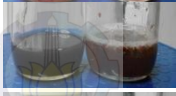




Lampiran 4. Hasil Degradasi *congo red*

No.	Kode Isolat	Isolat	pH	Hari ke-7	Hari ke-14
1.	-	Kontrol	4		
			5		
			6		
2.	LM 1023	<i>Scopulariopsis</i> sp. 2	4		
			5		
			6		
3.	LM 1013	<i>Acremonium</i> sp.	4		
			5		
			6		
4.	LM 1011	<i>Aspergillus oryzae</i>	4		
			5		
			6		

5.	LM 1031	<i>Paecylomyces</i> sp. 4	4		
			5		
			6		
6.	LM 1014	<i>Cephalophora</i> sp.	4		
			5		
			6		
7.	LM 1021	<i>Gliomastix</i> sp.	4		
			5		
			6		
8.	LM 1028	<i>Paecylomyces</i> sp. 1	4		
			5		
			6		
9.	LM 1038	<i>Trichoderma</i> sp. 1	4		
			5		
			6		





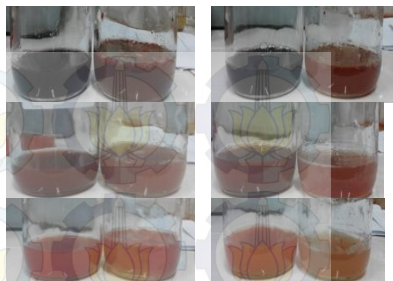
18.	LM 1019	<i>Gliocladium</i> sp.	4		
			5		
			6		
19.	LM 1041	<i>Mycelia</i> <i>sterilia</i>	4		
			5		
			6		
20.	LM 1034	<i>Stachybotrys</i> sp. 2	4		
			5		
			6		
21.	03	<i>Trichoderma</i> <i>koningi</i>	4		
			5		
			6		

22. LM *Exophiala* sp.
1017

4

5

6



Lampiran 5. Besar nilai degradasi (ppm) pada masing-masing genus

	pH 4	
	Hari ke-7	Hari ke-14
Kontrol	0,9982	0,9966
Scopulariopsis	6,681771	8,084903
Aspergillus	5,117017	6,9666
Acremonium	2,29	2,82
Paecylomyces	6,279752	9,606058
Trichoderma	4,719626	6,927352
Cephalophora	5,84	9,51
Gliomastix	7,71	14,01
Absidia	5,98	7,33
Verticilium	4,35	5,73
Fusarium	5,9	7,75
Curvularia	4,16	4,21
Gliocladium	6,16	10,38
<i>Mycelia sterilia</i>	5,9	8,04
Stachybotrys	1,27	1,9
Exophiala	5,61	7,37

	pH 5	
	Hari ke-7	Hari ke-14
kontrol	0,9929	0,9932
Scopulariopsis	4,810557	8,576125
Aspergillus	5,221947	8,855389
Acremonium	1,94	3,72
Paecylomyces	4,87662	7,92751
Trichoderma	3,363186	6,023707
Cephalophora	4,86	7,2
Gliomastix	4,48	6,82
Absidia	3,39	5,72
Verticilium	4,6	6,61
Fusarium	5,36	7,17
Curvularia	6,17	10,4
Gliocladium	6,75	12,44
<i>Mycelia sterilia</i>	4,88	7,47
Stachybotrys	3,69	5,93
Exophiala	4,87	7,21

	pH 6	
	Hari ke-7	Hari ke-14
Kontrol	0,9874	0,98
Scopulariopsis	4,483822	6,284763
Aspergillus	4,302246	5,877142
Acremonium	6,04	6,69

Paecylomyces	3,861275	6,262529
Trichoderma	5,136015	7,789252
Cephalophora	3,7	5,79
Gliomastix	3,95	6
Absidia	6,35	9,26
Verticilium	3,67	6,29
Fusarium	5,58	6,71
Curvularia	4,41	6,93
Gliocladium	3,79	6,98
<i>Mycelia sterilia</i>	3,72	4,71
Stachybotrys	3,77	7,05
Exophiala	7,78	12,25



BIODATA PENULIS

Penulis dilahirkan di Surabaya pada tanggal 13 Januari 1994 sebagai anak pertama dan anak tunggal dari pasangan Saelan dan Mardiyah. Penulis merupakan alumni dari SMA Negeri 4 Surabaya pada tahun 2011. Setelah itu penulis melanjutkan jenjang pendidikan ke Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya, tepatnya di Jurusan Biologi FMIPA.

Selama kuliah di Institut Teknologi Sepuluh Nopember penulis pernah bergabung dalam Himpunan Mahasiswa Biologi ITS dalam naungan Departemen Dalam Negeri (Dagri) pada tahun 2012-2014 sebagai staff maupun ketua divisi. Selain itu, penulis juga mengikuti berbagai macam pelatihan kepribadian dan pengembangan karakter yang diadakan oleh Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS) Surabaya. Penulis memiliki hobi menonton film dan *travelling*. Oleh karena itu salah satunya diterapkan saat melakukan Kerja Praktek. Penulis memilih melakukan KP di luar pulau, yakni di Riau agar penulis bisa memiliki pengalaman baru di tempat yang jauh, dengan budaya dan suasana yang baru pula. Penulis sangat mengagumi keindahan alam termasuk *sunset* dan *sunrise*.